

## DETECTION DE QTL POUR DES CARACTERES LIES AUX REJETS CHEZ LE POULET DE CHAIR

**Mignon-Grasteau Sandrine<sup>1</sup>, Carré Bernard<sup>1</sup>, Gabriel Irène<sup>1</sup>, Rideau Nicole<sup>1</sup>, Chantry-Darmon Céline<sup>2</sup>, Boscher Marie-Yvonne<sup>2,3</sup>, Bastianelli Denis<sup>4</sup>, Sellier Nadine<sup>5,6</sup>, Chabault-Dhuit Marie<sup>1</sup>, Le Bihan-Duval Elisabeth<sup>1</sup>, Narcy Agnès<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>UR083 RECHERCHES AVICOLES, INRA, 37380 NOUZILLY, France,

<sup>2</sup>INRA, LABOGENA, Domaine de Vilvert, 78352 JOUY EN JOSAS CEDEX, France,

<sup>3</sup>UAR-DRH, INRA, 147 rue de l'Université, 78338 PARIS CEDEX 07, France,

<sup>4</sup>CIRAD-SELMET, Baillarguet TA C-112/A, 34398 MONTPELLIER CEDEX 05, France,

<sup>5</sup>UE1295 PEAT, INRA, 37380 NOUZILLY, France,

<sup>6</sup>INSTITUT SOPHIA AGROBIOTECH, INRA, 400 route des Chappes, 06903 SOPHIA ANTIPOLIS CEDEX, France

[sandrine.grasteau@tours.inra.fr](mailto:sandrine.grasteau@tours.inra.fr)

### RÉSUMÉ

L'efficacité digestive influe fortement sur l'excrétion et par conséquent l'impact environnemental de la production de poulet de chair. Nous avons recherché les zones du génome contrôlant des caractéristiques importantes des rejets sur un croisement F2 entre deux lignées sélectionnées de façon divergente sur l'efficacité digestive. Au total, 865 animaux ont été mesurés pour les quantités brutes de fientes fraîches et sèches (PFF, PFS) et leur rapport à la consommation alimentaire de fientes fraîches et sèches (PFFC, PFSC), le contenu en eau des fientes (EAU), le rapport entre azote et phosphore dans les fientes (N/P), le pH des fientes, du contenu du gésier et du contenu du jéjunum (PHF, PHG, PHJ). L'ensemble des animaux (F0, F1, F2) a été génotypé avec 6000 marqueurs SNP couvrant 28 autosomes, un groupe de liaison non assigné et le chromosome Z.

Au total, 11 QTLs ont été identifiés pour : PFS (GGA19, GGA26), PFFC (GGA8), PFSC (GGA16), N/P (GGA11, GGA26), EAU (GGA28), PHG (GGA2, GGA16, GGA27) et PHJ (GGA19). Le QTL du pH du gésier sur le chromosome 2 est le plus significatif ( $P=0,15$  au niveau du génome), les autres QTLs n'étant significatifs qu'au niveau du chromosome. Sur les chromosomes 16 et 27, ces QTLs co-localisent avec des QTLs d'efficacité digestive. Sur les chromosomes 8, 16 et 26, ces QTLs co-localisent avec des QTLs de longueur relative de l'intestin. Des travaux sont actuellement en cours pour confronter les données d'expression de gènes sur les tissus du tractus gastro-intestinal et les données de génomique positionnelle présentées ici afin de suggérer des gènes candidats expliquant ces QTLs.

### ABSTRACT

#### QTL detection for excretion traits in broiler

Digestive efficiency (DE) has a large impact on excretion traits and on environmental impact of poultry production. An F2 cross between 2 lines of chickens divergently selected on DE has been used to detect QTL. A total of 865 birds were measured for the quantity of fresh and dry excreta as raw values (FEW, DEW) and relative to consumption values (FEWC, DEWC), for water content (WC), pH (PHE) and nitrogen to phosphorus content ratio (NP) of excreta, and for pH of gizzard and jejunum contents (PHG, PHJ). All birds from F0, F1 and F2 generations have been genotyped for 6000 SNP markers spread over 28 autosomes and the Z chromosome.

Eleven QTL were found for: DEW (GGA19, GGA26), FEWC (GGA8), DEWC (GGA16), NP (GGA11, GGA26), WC (GGA28), PHG (GGA2, GGA16, GGA27), PHJ (GGA19). The QTL for pH of the gizzard on chromosome 2 is the most significant ( $P=0.15$  on a genome-wide scale). On chromosomes 16 and 27, these QTL co-localized with QTL for DE. On chromosomes 8, 16 and 26, QTLs for excretion traits co-localized with QTLs for relative intestine length. Further work is under progress to compare results of positional genomics presented here with gene expression data obtained on tissue of gastro-intestinal tract.

## INTRODUCTION

L'efficacité digestive est une composante de l'efficacité alimentaire qui a un impact important à la fois sur les performances et sur les rejets en aviculture, en particulier lorsque les animaux sont nourris avec un régime incluant des matières premières de qualité variable. Mignon-Grasteau et al. (2004) ont sélectionné deux lignées divergentes pour une forte (D+) ou faible (D-) efficacité digestive, en utilisant une variété de blé difficile à digérer. Après 8 générations de sélection, la différence d'efficacité digestive entre D+ et D- est de l'ordre de 30 à 40 % suivant les expériences (Carré et al., 2008 ; de Verdal et al., 2011a). De Verdal et al. (2013) ont montré que l'excrétion était de 56 à 61% plus élevée chez les D- que chez les D+. Les taux d'excrétion de l'azote et du phosphore sont également de 13 à 30% plus élevés chez les D-. Si l'on se place dans le respect de la législation européenne sur l'épandage des rejets agricoles, ces différences entre D+ et D- impliquent qu'épandre les rejets des D+ ne requiert que 50% de la surface nécessaire à l'épandage des rejets des D-. Afin de comprendre l'architecture génétique de l'efficacité digestive et de fournir des marqueurs utilisables dans les schémas de sélection, nous avons entrepris une expérience de détection de QTL dans un croisement de type F2 entre les lignées D+ et D-. Cette expérience a révélé l'existence de 9 QTL d'efficacité digestive (Tran et al., 2014). Au cours de ce programme, un phénotypage large a été réalisé, incluant notamment une série de caractères de quantité, mais aussi de composition et de caractéristiques physico-chimiques des rejets, connus pour influencer la transformation des fientes en fumier de leur production à l'épandage. Le contenu en eau et le pH des fientes est par exemple important pour le développement des bactéries qui contribuent à la transformation de l'azote en ammoniac, ce qui affecte la teneur finale en azote des fumiers de volailles (Lefcourt et Meisinger, 2001). L'équilibre entre azote et phosphore dans les rejets a également été pris en compte car il détermine la surface nécessaire à l'épandage des fumiers dans le respect des législations françaises et européennes. Le but de cette étude est donc de détecter des QTL de caractéristiques liées aux rejets dans le croisement F2 des lignées D+ et D-.

## 1. MATERIELS ET METHODES

### 1.1. Animaux

Au total, 865 mâles et femelles ont été utilisés dans cette étude, issus d'un croisement F2 entre les lignées divergentes D+ et D- (sélectionnées à 3 semaines d'âge sur l'efficacité digestive mesurée par l'énergie métabolisable corrigée pour un bilan azoté nul ou EMAn). Les animaux ont été produits entre janvier et juin 2009 et sont issus de 6 familles de pères et de 60

familles de mères. Les animaux ont été élevés au sol pendant 10 jours, puis transférés en cages individuelles de 10 à 23 jours. Ils ont été nourris *ad libitum* avec un régime contenant 52,5% de blé Rialto, 21,1% de protéines et 13.02 MJ/kg MS.

### 1.2. Mesures

Une collecte totale d'excréta a été réalisée entre 17 et 20 jours pour mesurer l'efficacité digestive. Les fientes ont été pesées individuellement (PFF) et leur pH mesuré (PHE). Les fientes ont ensuite été congelées et lyophilisées, puis pesées à nouveau (PFS). La consommation alimentaire a été mesurée sur la même période et les poids de fientes fraîches et sèches relatives à la consommation alimentaire ont été calculées (PFFC, PFSC). La teneur en eau des fientes a été mesurée comme la différence entre les poids de fientes fraîches et sèches divisée par le poids de fientes fraîches (EAU). La concentration en azote des fientes a été évaluée sur tous les individus par spectrométrie infra-rouge (NIRS, Foss NIRSystems Inc., Silver Spring MD) selon la méthode de Bastianelli et al. (2010). La teneur en phosphore des fientes a été mesurée par colorimétrie après minéralisation des échantillons. Le ratio des teneurs en azote et phosphore des fientes a ensuite été calculé (N/P). A 23 jours, un échantillon de sang a été prélevé sur tous les animaux pour le génotypage. Les animaux ont ensuite été abattus et les contenus de leur gésier et de leur jéjunum prélevés puis homogénéisés. Le pH du contenu du gésier (PHG) et du jéjunum (PHJ) a été mesuré par insertion directe d'une électrode Xerolyte dans les contenus.

Tous les animaux du dispositif (F0, F1, F2) ont été génotypés pour 6000 marqueurs SNP grâce à une puce dédiée Illumina Infinium. Ces marqueurs étaient répartis sur 28 autosomes, un groupe de liaison non assigné et le chromosome Z. Les marqueurs présentant des incohérences de ségrégations alléliques ou des génotypes incohérents par rapport au pedigree ou à la carte génétique ont été éliminés de l'analyse. Au final, 3379 marqueurs ont été réellement utilisés. La carte génétique a été déduite de la position physique des SNP (1 Mb=1 cM) telle que présentée dans la carte consensus de référence de Groenen et al. (2009). Cet ensemble de marqueurs couvrait une surface totale de 3099,1 cM.

### 1.3. Analyses statistiques

Une analyse de variance a tout d'abord été réalisée avec la procédure GLM de SAS afin de tester la significativité des effets fixés du lot (N = 5), du sexe, de la cellule d'élevage (N = 3), de la rangée de cages dans la cellule (N = 3). Les données ont ensuite été pré-corrigées pour les effets significatifs.

La détection de QTL a été réalisée avec le logiciel QTLMap (Filangi et al., 2010) en utilisant le modèle demi-frères(sœurs) (Le Roy et al., 1998, Elsen et al.,

1999) avec une cartographie d'intervalle reposant sur la méthode du maximum de vraisemblance (Lander et Botstein, 1989). Pour chaque caractère sur chaque chromosome, le seuil de significativité des résultats au niveau du chromosome a été calculé d'après le résultat de 5000 simulations sous hypothèse nulle, avec une valeur d'héritabilité calculée sur notre dispositif (Tableau 1). Le seuil de significativité au niveau du génome a ensuite été déduit de celui au niveau du chromosome en utilisant la correction de Bonferroni (Tilquin et al., 2005). L'intervalle de confiance des QTL a été estimé par la méthode du LOD drop-off proposée par Lander et Botstein (1989). La significativité des QTLs dans chaque famille de père a été testée par un test de Student en supposant une distribution égale des allèles aux QTLs dans les descendants des familles. Un QTL est déclaré significatif si la probabilité associée au test de Student est inférieure à 0,05. Les effets des QTLs sont estimés en moyennant les effets estimés dans les familles pour lesquelles les QTLs ont été trouvés significatifs.

## 2. RESULTATS ET DISCUSSION

### 2.1. Données d'excrétion et estimations de l'héritabilité

Le tableau 1 montre les statistiques élémentaires sur les données d'excrétion et les valeurs d'héritabilité. Les quantités de fientes rapportées à la consommation alimentaire, le ratio N/P et la teneur en eau des fientes sont proches ou légèrement plus faibles que celles trouvées précédemment dans les lignées D+ et D- (de Verdal et al., 2011b). La comparaison sur les poids bruts de fientes fraîches et sèches est plus difficile car elles n'ont pas été obtenues au même âge que dans les études précédentes. Les valeurs de pH des contenus du gésier et du jéjunum sont dans la gamme de valeurs attendue et comparables au résultat d'une étude précédente sur les D+/D-, soit 2,5 à 4,0 pour le gésier et 5,8 à 7,0 pour le jéjunum, ce dernier étant intermédiaire entre le pH retrouvé dans le duodénum et dans l'iléum (de Verdal et al., 2011b). Les valeurs d'héritabilité sont modérées à fortes sauf pour les caractères PFF, PFFC et PHJ qui étaient plus difficiles à mesurer rapidement et avec précision. Ces valeurs d'héritabilité sont proches de celles obtenues par de Verdal et al. (2011a, b) pour PFSC (0,28 vs 0,30) et PFFC (0,13 vs 0,17), mais plus élevées pour la teneur en eau des fientes (0,26 vs. 0,13) et N/P (0,29 vs. 0,18).

### 2.2. QTL détectés

Au total, 11 QTLs significatifs au niveau du chromosome ( $p < 0,05$ ) ont été détectés dans cette expérience. Aucun d'entre eux n'atteint le seuil de significativité de 5% au niveau du génome, le plus significatif étant le QTL de pH de contenu du gésier sur le chromosome 2 ( $P = 0,15$  au niveau du génome).

Cela est en partie dû au fait que ces QTLs ne sont pas fixés dans les populations de départ et qu'ils ne sont significatifs que dans 2 à 5 des 6 familles de pères F1. Tous ces QTLs ont des effets modérés. Cependant, ces caractères ayant des variabilités phénotypiques importantes, même des QTLs avec un effet modéré peuvent avoir des conséquences non négligeables. Par exemple, le QTL de teneur en eau a un effet de seulement 0,17 écart-type. Cela représente une différence dans l'humidité des fientes de 1,5%, soit 29% de l'écart total entre D+ et D- selon les valeurs mesurées par de Verdal et al. (2011b). De même, le cumul des 3 QTLs de pH du contenu du gésier représente 0,35 point de pH, soit 73% de la différence phénotypique entre les D+ et les D- (de Verdal et al., 2011b).

Nous avons observé plusieurs cas de co-localisations entre les QTL d'excrétion et les QTLs d'efficacité digestive ou d'anatomie du tractus digestif obtenus sur le même dispositif (Tran et al., 2014). Sur le chromosome 16, on trouve par exemple des QTLs pour PHG, PFSC mais aussi pour l'EMAn, les coefficients d'utilisation digestive de la matière sèche, de l'amidon et des protéines et la longueur relative de l'intestin. Ces QTLs se situent également à proximité du QTL d'efficacité alimentaire détecté par Ewald et al. (2007). Compte-tenu du très faible nombre de marqueurs sur ce chromosome, ces co-localisations demandent néanmoins à être confirmées.

Nous avons également observé des co-localisations entre QTLs entre PFSC et la longueur relative de l'intestin sur le chromosome 8, entre N/P, la longueur relative de l'intestin et la digestibilité de l'amidon sur le chromosome 26 et entre PHG et la digestibilité de la matière sèche sur le chromosome 27. Ces co-localisations entre caractéristiques d'excrétion et anatomie du tractus digestif ne sont pas surprenantes, cette dernière apparaissant comme un facteur essentiel des différences d'efficacité digestive entre D+ et D- (Rougière et al., 2009, de Verdal et al., 2010).

De même que pour l'efficacité digestive, nos QTLs d'excrétion ne sont pas détectés aux mêmes endroits que les QTLs d'efficacité alimentaire mentionnés dans la littérature (Tran et al., 2014). Cela est probablement en partie dû au fait que nous utilisons un génotype à croissance intermédiaire qui atteint son poids commercial de 2 kg à 7 semaines. De plus, au contraire des autres études, notre régime ne repose pas sur une base maïs-soja facile à digérer, mais inclut une forte proportion d'un blé de mauvaise qualité qui stimule les capacités digestives des animaux. Il n'est donc pas surprenant que les bases génétiques de l'efficacité des animaux diffèrent entre ces deux types de régime.

Nous pouvons enfin également noter que les QTLs pour PFS et N/P du chromosome 26 co-localisent avec un QTL de poids à 23 jours (Tran et al., 2014). D'autres études ont également détecté des QTL de poids dans cette région (Park et al., 2006, Ankra-Badu et al., 2010). De même, sur les chromosomes 11 et 27,

les QTLs que nous avons détecté pour N/P et PHG co-localisent avec des QTLs de croissance (Kerje et al., 2003, Carlborg et al., 2003), d'engraissement (Ankra-Badu et al., 2010), de glycémie sur des animaux à jeun (Nadaf et al., 2009). La corrélation génétique entre N/P, PHG or PFS et le poids à 23 jours est modérée (entre 0,24 et 0,60, données personnelles). Cependant, ces mêmes caractères sont fortement corrélés à la consommation alimentaire (0,71 to 0,95, données personnelles), elle-même fortement corrélée au poids vif, à l'engraissement et à la glycémie. La consommation alimentaire pourrait donc être le lien entre ces QTLs d'excrétion et de croissance.

## CONCLUSION

Nos résultats montrent l'existence d'une base génétique significative pour les caractéristiques d'excrétion chez le poulet de chair, qui sont reliées à la fois à l'efficacité digestive, à l'anatomie du tractus digestif et à la croissance. Des recherches sont désormais en cours pour confronter les données de génomique fonctionnelle et positionnelle afin de suggérer une liste pertinente de gènes candidats dans ces régions.

## REMERCIEMENTS

Ce projet a été financé par l'ANR dans le cadre du projet 09-GENM-007 CHIEF.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Ankra-Badu G.A., Le Bihan-Duval E., Mignon-Grasteau S., Pitel F., Beaumont C., Duclos M.J., Simon J., Carré W., Porter T.E., Vignal A., Cogburn L.A., Aggrey S.E., 2010. *Anim. Genet.*, (41), 400–405.
2. Bastianelli D., Bonnal L., Juin H., Mignon-Grasteau S., Davrieux F., Carré B., 2010. *J. Near Infrared Spectroscop.*, (18), 69–77.
3. Carlborg O., Kerje S., Schütz K., Jacobsson L., Jensen P., Andersson L., 2003. *Genome Res.*, (13), 413–421.
4. Carré B., Mignon-Grasteau S., Juin H., 2008. *World Poult. Sci. J.*, (64), 377–390.
5. de Verdal H., Mignon-Grasteau S., Jeulin C., Le Bihan-Duval E., Leconte M., Mallet S., Martin C., Narcy A., 2010. *Poult. Sci.* (89), 1955–1961.
6. de Verdal H., Narcy A., Bastianelli D., Chapuis H., Mème N., Urvoix S., Le Bihan-Duval E., Mignon-Grasteau S., 2011a. *BMC Genet.*, (12), 59.
7. de Verdal H., Narcy A., Bastianelli D., Chapuis H., Mème N., Urvoix S., Le Bihan-Duval E., Mignon-Grasteau S. 2011b. *BMC Genet.*, (12), 71.
8. de Verdal H., Mignon-Grasteau S., Bastianelli D., Mème N., Le Bihan-Duval E., Narcy A., 2013. *J. Anim. Sci.* (91), 613–622.
9. Elsen J.M., Mangin B., Goffinet B., Boichard D., Le Roy P., 1999. *Genet. Sel. Evol.*, (31), 213–224.
10. Ewald S.J., Ye X., Avendano S., McLeod S., Lamont S.J., Dekkers J.C.M., 2007. *Anim. Genet.*, (38), 174–176.
11. Filangi O., Elsen J.M., Gilbert H., Legarra A., Le Roy P., Moreno C., 2010. *Proc. 9th WCGALP*, 0787.
12. Groenen M.A., Wahlberg P., Foglio M., Cheng H.H., Megens H.J., Crooijmans R.P., Besnier F., Lathrop M., Muir W.M., Wong G.K., Gut I., Andersson L., 2009. *Genome Res.*, (19), 510–519.
13. Kerje S., Carlborg O., Jacobsson L., Schütz K., Hartmann C., Jensen P., Andersson L., 2003. *Anim. Genet.*, (34), 264–274.
14. Lander E.S., Botstein D., 1989. *Genetics*, (121), 185–199.
15. Lefcourt A.M., Meisinger J.J., 2001. *J. Dairy Sci.*, (84), 1814–1821.
16. Le Roy P., Elsen J.M., Boichard D., Mangin M., Bidanel J.P., Goffinet B., 1998. *Proc 6th WCGALP*, 257–260.
17. Mignon-Grasteau S., Muley N., Bastianelli D., Gomez J., Péron A., Sellier N., Millet N., Besnard J., Hallouis J.M., Carré B., 2004. *Poult. Sci.*, (83), 860–867.
18. Nadaf N., Pitel F., Gilbert H., Duclos M.J., Vignoles F., Beaumont C., Vignal A., Porter T.E., Cogburn L.A., Aggrey S.E., Simon J., Le Bihan-Duval E., 2009. *Physiol. Genomics*, (38), 241–249.
19. Park H.B., Jacobsson L., Wahlberg P., Siegel P.B., Andersson L., 2006. *Physiol. Genomics*, (25), 216–223.
20. Rougière N., Gomez J., Mignon-Grasteau S., Carré B., 2009. *Poult. Sci.*, (88), 1206–1215.
21. Tilquin P., Barrow P.A., Marly J., Pitel F., Plisson-Petit F., Velge P., Vignal A., Baret P.V., Bumstead N., Beaumont C., 2005. *Genet. Sel. Evol.*, (37), 539–561.
22. Tran T.S., Narcy A., Carré B., Gabriel I., Rideau N., Gilbert H., Demeure O., Bed'Hom B., Chantry-Darmon C., Boscher M.Y., Bastianelli D., Sellier N., Chabault M., Calenge F., Le Bihan-Duval E., Beaumont C., Mignon-Grasteau S., 2014. *Genet. Sel. Evol.*, (46), 25

**Tableau 1.** Statistiques élémentaires sur données corrigées<sup>1</sup> et héritabilité estimée des caractères d'excrétion.

Caractère <sup>2</sup>	N	Moyenne	Ecart-Type	Héritabilité
PFF (g)	854	121,4	49,96	0,18±0,06
PFS (g)	856	45,40	12,57	0,40±0,09
PFFC (%)	849	77,85	26,58	0,13±0,04
PFSC (%)	846	32,38	5,07	0,28±0,04
EAU (%)	851	60,27	8,88	0,26±0,06
N/P (g:g)	865	4,36	0,40	0,29±0,07
PHE	775	7,21	0,54	0,46±0,09
PHG	667	4,44	0,56	0,27±0,06
PHJ	798	6,27	0,18	0,12±0,04

<sup>1</sup>Données corrigées pour les effets fixés significatifs (cellule, lot, sexe, rangée de cage)

<sup>2</sup>PFF : poids de fientes fraîches ; PFS : poids de fientes sèches ; PFFC : PFF divisé par la consommation alimentaire ; PFSC : PFS divisé par la consommation alimentaire ; EAU : teneur en eau des fientes ; N/P : ratio entre azote et phosphore dans les fientes ; PHE, PHG, PHJ: pH des fientes, du contenu du gésier et du contenu du jéjunum

**Tableau 2.** QTLs détectés pour les caractéristiques d'excrétion

Caractère <sup>1</sup>	Chr.	Position (cM)	Intervalle de confiance (cM)	Effet (en écart-type phénotypique du caractère) <sup>3</sup>	Nb de familles de pères F1 dans lequel le QTL est significatif	Degré de significativité au niveau du chromosome
PHG	2	48,0	47,4-60,2	0,24	4	0,025
PFFC	8	4,0	0,00-5,3	0,19	5	0,027
N/P	11	55,0	51,0-60,0	0,18	4	0,047
PHG	16	0,00	- <sup>2</sup>	0,19	4	0,047
PFSC	16	0,00	- <sup>2</sup>	0,17	4	0,050
PHJ	19	0,00	0,00-5,50	0,25	2	0,048
PFS	19	09,0	0,00-18,5	0,16	3	0,050
PFS	26	25,0	20,7-27,5	0,25	2	0,042
N/P	26	34,0	28,1-37,0	0,18	5	0,010
PHG	27	19,7	0,00-32,1	0,21	3	0,045
EAU	28	8,0	0,00-14,1	0,17	5	0,030

<sup>1</sup>PFF : poids de fientes fraîches ; PFS : poids de fientes sèches ; PFFC : PFF divisé par la consommation alimentaire ; PFSC : PFS divisé par la consommation alimentaire ; EAU : teneur en eau des fientes ; N/P : ratio entre azote et phosphore dans les fientes ; PHE, PHG, PHJ: pH des fientes, du contenu du gésier et du contenu du jéjunum

<sup>2</sup> Intervalle de confiance non estimable en raison du faible nombre de marqueurs sur ce chromosome

<sup>3</sup> Effet estimé par la moyenne des effets dans les familles pour lesquelles le QTL est significatif, exprimé en écart-type phénotypique du caractère